



**ArcheoSciences**

Revue d'archéométrie

**35 | 2011**

**Varia / International ArBoCo Workshop**

---

## Détermination de l'état de conservation, du consolidant et dosages isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ ) d'ossements d'anciennes collections anthropologiques Le cas de la grotte La Pollera (Ligurie, Italie)

*Study of Bone Preservation State, the Used Consolidant and Stable Isotope Analysis of Old Anthropological Collections. A Case Study on La Pollera Cave (Liguria, Italy)*

**Gwenaëlle Goude, Katharina Müller, Fanny Buscaglia et Ina Reiche**

---



### Édition électronique

URL : <http://journals.openedition.org/archeosciences/3252>

DOI : 10.4000/archeosciences.3252

ISBN : 978-2-7535-1849-0

ISSN : 2104-3728

### Éditeur

Presses universitaires de Rennes

### Édition imprimée

Date de publication : 30 avril 2011

Pagination : 223-233

ISBN : 978-2-7535-1847-6

ISSN : 1960-1360

### Référence électronique

Gwenaëlle Goude, Katharina Müller, Fanny Buscaglia et Ina Reiche, « Détermination de l'état de conservation, du consolidant et dosages isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) d'ossements d'anciennes collections anthropologiques Le cas de la grotte La Pollera (Ligurie, Italie) », *ArcheoSciences* [En ligne], 35 | 2011, mis en ligne le 30 avril 2013, consulté le 16 février 2021. URL : <http://journals.openedition.org/archeosciences/3252> ; DOI : <https://doi.org/10.4000/archeosciences.3252>

---

# Détermination de l'état de conservation, du consolidant et dosages isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$ , $\delta^{15}\text{N}$ ) d'ossements d'anciennes collections anthropologiques Le cas de la grotte La Pollera (Ligurie, Italie)

*Study of Bone Preservation State, the Used Consolidant and Stable Isotope  
Analysis of Old Anthropological Collections. A Case Study on La Pollera Cave  
(Liguria, Italy)*

Gwenaëlle GOUDE\*, Katharina MÜLLER\*\*, Fanny BUSCAGLIA\*\* et Ina REICHE\*\*

**Résumé :** L'analyse des dosages isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) dans le collagène osseux, pour reconstruire des tendances alimentaires humaines, est une méthode aujourd'hui utilisée en routine. Celle-ci permet d'appréhender la consommation de ressources protéiques au cours des dernières années de la vie de l'individu. Dans le cadre d'une étude paléolithique réalisée sur des groupes néolithiques de Ligurie, des dosages isotopiques ont été effectués sur des restes osseux humains ( $n=14$ ) et animaux ( $n=13$ ) du site de La Pollera (culture VBQ, 4900-4600 BC cal., Italie). Le matériel provient de fouilles anciennes et l'ensemble des restes osseux humains (trouvés en contexte sépulcral), est enduit par un consolidant inconnu qui est susceptible d'avoir un impact sur les valeurs isotopiques du collagène osseux. Afin d'identifier la nature de ce dernier, quatre échantillons consolidés ont été analysés par spectroscopie IR à transformée de Fourier (IRTF) et microscopie électronique à balayage (MEB). Les résultats montrent la nature de ce matériau exogène : de la colle animale. De plus, les observations au MEB et les paramètres déduits de l'analyse IRTF ont permis une évaluation globale de l'état de conservation des vestiges osseux. Parallèlement à ce travail, le collagène osseux de tous les échantillons humains et animaux a été extrait pour les analyses isotopiques. Les résultats de compositions élémentaires, de dosages isotopiques et la comparaison avec d'autres données isotopiques sur la région, montrent (1) que le collagène est bien conservé pour tous les échantillons et (2) qu'il ne semble pas avoir de modification des données isotopiques originelles de l'os par le consolidant à l'exception d'un échantillon. Cette étude conforte la possibilité d'étudier les collections anciennes potentiellement soumis à des contaminants exogènes, mais reste prudente quant à la possibilité d'effectuer des datations radiométriques.

**Abstract:** The use of stable isotope analysis ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) on bone collagen to reconstruct human palaeodiets is now a routine procedure. This method allows getting information on protein consumption during the last years of individual's life. Within the framework of a palaeodietary study on Ligurian Neolithic populations, we applied this method on human ( $n=14$ ) and animal ( $n=14$ ) bone remains from the cave of La Pollera (VBQ culture, 4900-4600 BC cal., Italy). The main part of bone material comes from old excavations. The ensemble of human remains (coming from burials), was coated with an unknown consolidant that may have a confounding effect on the isotopic values. In order to get information on the chemical composition of this consolidant, four coated bone samples were analyzed by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) and scanning electron microscopy (SEM). Additionally, the amide II black spot test was carried out. Results showed the nature of the consolidant, which is animal glue (i.e. collagen based). Besides, the general state of preservation of the bone material could be evaluated by parameters deduced from FTIR analyses and SEM observations. Bone collagen of all animal and human samples was extracted for stable isotope analysis. Elemental and stable isotope compositions, as well as the comparison with data obtained

\* UMR CNRS 7269 LAMPEA, Laboratoire Méditerranéen de Préhistoire Europe Afrique, MMSH – 5 rue du Château-de-l'Horloge, BP 647, 13094 Aix-en-Provence Cedex 2, France. (goude@mms.h.univ-aix.fr)

\*\* Laboratoire du Centre de Recherche et de Restauration des Musées de France, UMR 171 CNRS Palais du Louvre – Porte des Lions, 14 quai F.-Mitterrand, 75001 Paris.

on other Neolithic Ligurian samples, show (1) a good preservation of collagen for all samples, and (2) no obvious contamination of stable isotope data by the consolidant except for one sample. This study is encouraging to proceed with stable isotope analysis on material coming from old excavations, but pinpoints necessary cautions for radiocarbon dating.

**Mots clés :** Ossements humains et animaux, consolidant, état de conservation, alimentation, isotopes stables, Néolithique, Italie, MEB, IRTF, test ELISA au noir d'amide II.

**Keywords:** Human and animal bone, consolidation products, preservation state, diets, stable isotopes, Neolithic period, Italy, SEM, FTIR, amide II black spot test.

## 1. INTRODUCTION

Dans le cadre d'une étude menée depuis 2005 sur l'alimentation néolithique en Ligurie, de nouvelles analyses isotopiques du collagène osseux ( $\delta^{13}\text{C}$ ,  $\delta^{15}\text{N}$ ) ont été envisagées sur des restes humains et animaux du site de La Pollera (Néolithique moyen, culture des Vases à Bouche Carrée, VBQ, ca; 4900-4600 BC cal., Italie).

L'intérêt des isotopes stables (carbone et azote), dosés dans le collagène osseux et dentaire, est d'appréhender directement et de façon individuelle la consommation des protéines (DeNiro et Epstein, 1978; 1981; Ambrose, 1993). L'analyse des isotopes stables permet ainsi d'avoir des informations sur : (1) l'écosystème dans lequel les individus ont acquis leurs ressources alimentaires, (2) la place des sujets dans la chaîne alimentaire et (3) les différences de comportements sociaux et économique (Schoeninger *et al.* 1983; Schoeninger et Moore, 1992; Bocherens et Drucker, 2003). Ces analyses sont complémentaires des études paléoenvironnementales (archéozoologiques, archéobotaniques) et une approche pertinente des données humaines nécessite l'intégration de données isotopiques acquises sur des animaux du site étudié (e.g. Herrscher et Le Bras-Goude, 2010).

Le site de La Pollera s'ouvre sur le flanc occidental d'un surplomb rocheux à 280 m d'altitude, qui domine la vallée de Pian Marino à 3 km de Finalborgo (province de Savona en Ligurie, Italie; figure 1) (Messori *et al.* 1977; Odetti, 1990). Les premières fouilles ont eu lieu en 1870 et ont été conduites jusqu'en 1907. De nouvelles fouilles débutent en 1971, dans le but d'établir plus clairement la stratigraphie des dépôts de la grotte et de dater les vestiges matériels (Messori *et al.* 1977; Odetti, 1976; Odetti, 1990). Les aspects concernant la paléoeconomie et le paléoenvironnement sont peu documentés par les fouilles anciennes du site (Biagi, 1987), mais l'étude d'autres grottes contemporaines de la région (e.g. Arene Candide, Riparo Pian del

Ciliegio) permet toutefois d'avoir quelques informations. D'une manière générale, l'agriculture et élevage sont bien développés, avec une dominance du mouton dans l'assemblage faunique (de Pascale et Arobba, 2008) et de l'orge pour la culture des céréales (Arobba *et al.* 1997; Branch, 1997; Nisbet 1997). Les ressources marines sont également exploitées (restes ichtyologiques et de matériel de pêche; Desse-Berset & Desse, 1999), mais leur importance est difficile à définir. Les restes ostéologiques humains et animaux de La Pollera sont actuellement conservés au Musée archéologique de Gênes-Pegli, à celui de Finale Borgho et à l'université de Gênes. Lors de l'échantillonnage, il s'est avéré que tous les restes anatomiques humains ont été enduit d'un consolidant, visible à l'œil nu, parfois même présent à l'intérieur des ossements (e.g. dans l'os spongieux), dont la nature chimique est inconnue des responsables de collections et non identifiée dans les archives. Ce consolidant n'est en revanche absolument pas présent sur les ossements de faune du même site. Compte tenu de l'ancienneté du traitement des restes humains, probablement antérieur à la 1<sup>re</sup> moitié du xx<sup>e</sup> siècle, il est fortement possible que des matériaux, telles que des colles animales, à base de collagène, aient été utilisés (Horie, 1987). Considérant le fait que notre étude paléoalimentaire est fondée sur l'analyse du collagène osseux, il s'avérerait nécessaire de déterminer (1) l'état de préservation général des ossements, (2) la nature du consolidant, et (3) son impact potentiel sur la préservation de la matière organique originelle afin de pouvoir utiliser, ou non, les valeurs isotopiques du collagène osseux pour reconstruire le régime alimentaire des sujets humains. Ainsi, les valeurs isotopiques du consolidant extrait et des ossements animaux du même site ont également été comparées. De plus, les valeurs isotopiques obtenues sur les échantillons d'os humains du site de la grotte La Pollera ont été comparées aux données disponibles sur d'autres sites contemporains de la même région.



Figure 1 : Localisation du site de La Pollera, Italie.  
Figure 1. Location of the site La Pollera, Italy.

## 2. MATÉRIAUX

L'échantillonnage des ossements pour l'étude isotopique a été réalisé en fonction de l'état de conservation apparent et des contraintes muséales. Quatorze côtes humaines (sexe et âge différents) et treize restes osseux animaux (ovicaprine, *Bos* sp. et *Sus* sp.) ont été sélectionnés. Parmi ces échantillons, quatre restes humains consolidés (homme âgé, enfant (< 6 ans), homme, femme, ABH\_Po1-4, respectivement) et trois restes animaux (deux ovicaprine et un *Bos* sp., AB\_Po5-7) ont été sélectionnés afin d'identifier le matériau exogène présent sur les ossements humains et d'évaluer leur état de conservation général.

La vérification de l'état de conservation du collagène extrait est indispensable pour la validité des résultats isotopiques obtenus et pour la sélection d'échantillons à faire dater au carbone-14 (Bocherens *et al.*, 2005a; Bocherens *et al.*, 2005b). Cette étape ne garantit aucunement l'absence

de pollution pour des datations radiométriques, mais permet d'éviter l'envoi d'ossements trop mal conservés pour ce type d'analyse. Pour cette étude, plusieurs critères de sélection sont retenus : les teneurs élémentaires  $\geq 30$  % pour la carbone et  $\geq 11$  % pour l'azote (Ambrose, 1993; van Klinken, 1999) et le rapport C/N qui doit être compris entre 2,9 et 3,6 (DeNiro, 1985).

## 3. MÉTHODES

Afin de connaître la nature, du consolidant appliqué sur les échantillons, un test micro-chimique, le test ELISA au noir amide II, a été utilisé. Le test au Noir amide II ( $\text{C}_{22}\text{H}_{14}\text{N}_6\text{Na}_2\text{O}_9\text{S}_2$ , Sel de disodium de l'acide 4-Amino-5-hydroxy-3-[(4-nitrophenyl)azo]-6-(phenylazo)-2,7-naphthalène-disulfonique) permet de révéler la présence de protéines animales dans une colle. Ce test étant immunologique, il ne permet pas la différenciation des protéines animales mais est facile à mettre en œuvre et permet de nous fournir une première indication sur le type du matériau. Le test est positif si l'échantillon présente une coloration bleue après l'application du produit de test ELISA.

La spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) a été utilisée pour analyser l'état de conservation des ossements archéologiques. Le calcul des rapports amide sur phosphate (bandes amide I à environ  $1660\text{ cm}^{-1}$  sur celle des phosphates à  $1035\text{ cm}^{-1}$ ), carbonate sur phosphate (bandes correspondant aux carbonates à  $1415\text{ cm}^{-1}$  sur celle des phosphates à  $1035\text{ cm}^{-1}$ ) et du *Splitting factor* IRSF représentant le degré de cristallinité des phosphates (valeur représentative de la séparation des bandes  $\nu_4$  des phosphates à  $565$  et  $605\text{ cm}^{-1}$ ) permet d'évaluer la teneur en matière organique osseuse, en carbonate et l'état d'avancement de l'altération de la phase minérale osseuse, respectivement (Reiche *et al.* 2010). Plus les rapports amide sur phosphate et carbonate sur phosphate sont petits, moins la matière organique ou carbonatée, respectivement, sont préservées. Plus l'IRSF est élevé, plus la matière minérale est altérée par rapport à l'état d'un os moderne.

Les analyses IRTF ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre Spectrum 2000 de Perkin Elmer en utilisant une cellule diamant. Le dépôt d'une très faible quantité de matière sous forme de poudre prélevée suffit à faire une analyse IRTF. Trois spectres IRTF en mode transmission sur cellule diamant avec une accumulation de 20 scans et une résolution spectrale de  $2\text{ cm}^{-1}$  ont été effectués sur chacun des prélèvements archéologiques.

À l'aide du logiciel OPUS®, des paramètres permettant l'évaluation de l'état de conservation des os ont pu être

déterminés : teneurs en collagène (rapport 1660 sur 1035), en carbonate (rapport 1415 sur 1035) et le *Splitting factor* (IRSF). Tous les spectres ont été corrigés par rapport à leur ligne de base par une correction de type *concave rubberband correction*.

Pour les observations en microscopie électronique à balayage (MEB), les échantillons ont été coupés à l'aide d'une scie diamantée. Les sections transverses obtenues ont été rincées à l'eau déminéralisée puis polies avec des disques diamantés. Après l'étape de polissage, les coupes sont rincées à l'eau déminéralisée sous ultrasons, séchées puis la surface plane est recouverte d'une couche de carbone afin de la rendre conductrice pour l'observation à l'aide d'un MEB XL 30 CP (Philips) en mode d'électrons secondaires (SE) ou d'électrons rétrodiffusés (BSE) avec une tension d'accélération de 20 kV et un courant de l'ordre de 100  $\mu$ A.

Parallèlement à ces analyses, l'extraction du collagène osseux a été réalisée suivant le protocole de Longin (1971), réadapté par Brown *et al.* (1988) et Richards & Hedges (1999) (détails voir Goude, 2007). Le nettoyage des surfaces externes des ossements ainsi que de leurs parties internes a été réalisé à l'aide d'une sableuse (abrasion par oxyde d'aluminium). Le collagène solubilisé a également été ultrafiltré (sélectionnant les molécules  $>$  à 30 kD). Les analyses élémentaires et isotopiques ont été effectuées à l'aide d'un spectromètre de masse isotopique, Thermo Finnigan Delta Plus XP, couplé à un analyseur élémentaire Flash EA System (EA-IRMS), au Département d'Evolution Humaine de l'Institut Max Planck d'Anthropologie Evolutive (Leipzig, Allemagne). Enfin, un échantillon de consolidant a été analysé pour comparaison avec l'os. Quelques mg de consolidant ont été prélevés entre les alvéoles d'os spongieux d'une côte du sujet humain 14 de La Pollera. Cet échantillon a ensuite été solubilisé dans l'eau distillée et filtré pour éliminer les résidus insolubles. Le filtra a été congelé et lyophilisé, puis analysé, également par EA-IRMS (Europa Scientific 20-20), au laboratoire Iso-Analytical Ltd (Crewe, UK).

## 4. RÉSULTATS

### Test microchimique ELISA

Le test au noir d'amide II a été appliqué sur un morceau de colle extrait de l'échantillon ABH-Po3. D'après la figure 2, le produit issu de cet échantillon présente une coloration bleue après le test. Le consolidant utilisé contient donc des protéines d'origine animale.

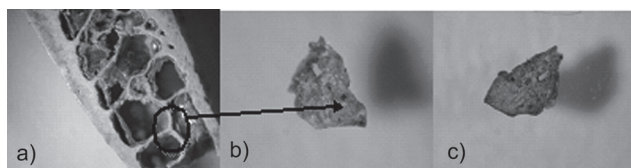


Figure 2 : (Voir planche couleur) Images de microscopie optique a) Echantillon ABH-Po3, Fragment de consolidant issu de l'échantillon AB-Po3; b) avant test au noir amide II, c) après test au noir amide II.

Figure 2: (See colour plate) Optical micrographs a) ABH-Po3 sample, fragment of the consolidant coming from the bone sample AB-Po3; b) before amide black test.

### Analyses IRTF du consolidant

Les analyses IRTF du prélèvement de consolidant sur l'os ABH\_Po3 ont permis de confirmer la présence de colle animale, à base de collagène. La comparaison des spectres du prélèvement et celui d'une référence de colle d'os (figure 3) montre la bonne correspondance des bandes d'absorption caractéristiques.

### Analyses IRTF des ossements

La spectroscopie IRTF a aussi été utilisée pour analyser l'état de conservation des ossements archéologiques (figure 4). Les valeurs des paramètres IR déterminés sont reportées dans le tableau 1.

Les trois os humains ABH\_Po1-3 et l'os animal AB\_Po\_6 montrent des teneurs en collagène bien moindres que la

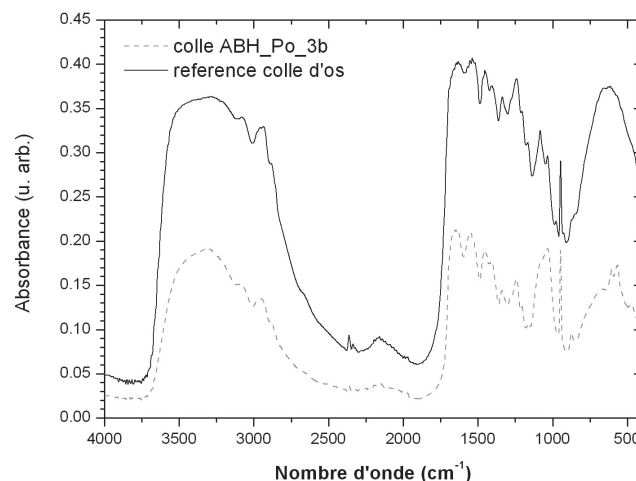


Figure 3 : Spectres IRTF du produit de consolidation extrait de l'os ABH\_Po3 et d'une colle d'os de référence.

Figure 3: FTIR spectra of the ABH\_Po3 consolidant and of a bone glue reference.



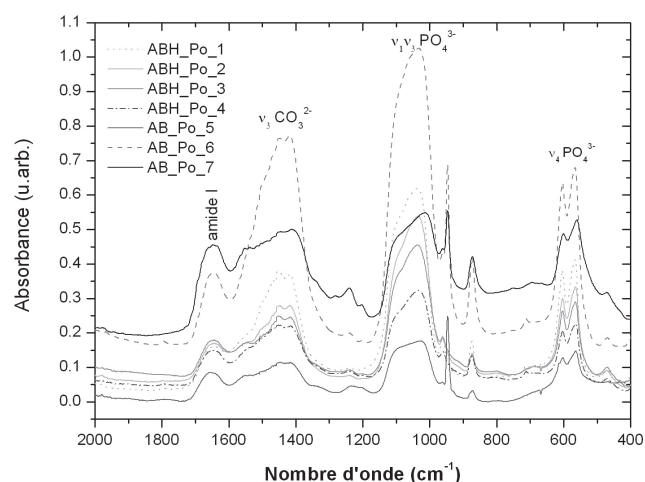


Figure 4 : (Voir planche couleur) Spectres IRTF des échantillons d'os archéologique du site de La Pollera, de ABH\_Po3 et d'une colle d'os de référence.

Figure 4: (See colour plate) FTIR spectra of La Pollera site archaeological bone samples, of ABH\_Po3, and a bone glue reference.

référence d'os moderne. Pour ces os humains, l'indice IRSF est également élevé indiquant une phase minérale fortement altérée par rapport à l'os moderne. L'os animal AB\_Po\_7 montre une teneur en collagène plus faible mais pas d'augmentation de la cristallinité. La teneur en collagène de l'os humain ABH\_Po\_4 correspond approximativement à celle de la référence moderne. L'indice IRSF n'étant que légèrement augmenté par rapport à la référence moderne ceci indique un bon état de conservation de cet échantillon.

Dans tous les échantillons d'os archéologique la teneur en carbonate est plus élevée que celle de l'os moderne.

## Observations microscopiques

Les observations au MEB permettent de classer finement les échantillons d'os archéologique en fonction de leur état de préservation (porosité, signes d'attaques microbiennes...). À l'exception de l'échantillon AB\_Po7, la totalité des échantillons montre la présence de traces d'une activité microbienne. Ces signes d'attaques microbiennes sont reconnaissables à des régions avec des micro-canaux et des zones hyperminéralisées (zones plus claires) correspondant à de l'apatite recristallisée visibles dans des zones plus brillantes et montrant des bords blancs dans les micrographies électroniques en mode BSE (ex. fig. 5 G-K).

Les micrographies électroniques des échantillons AB\_Po\_7 (*Bos* sp. ?) et AB\_Po\_5 montrent un bon état de conservation (fig. 5 A, B, et C). Les structures compactes sont proches de celle d'un os moderne. Le diamètre des ostéons diminue des bordures externe/interne vers la partie centrale de l'os AB\_Po\_7. L'échantillon AB\_Po5 (ovicaprin) présente quelques petites fissures autour des ostéons. La grosse fissure centrale a été provoquée pendant la préparation d'échantillon. Nous distinguons en bordure des lignes parallèles à la surface qui correspondent aux canaux de Havers. Quelques traces blanches traduisent une faible activité microbienne.

L'échantillon ABH\_Po4 (femme) présente un état d'altération un peu plus avancé que les échantillons précédents, notamment de par son activité microbienne plus étendue sur l'intégralité de la surface de l'échantillon (30-40 % de la surface). Des fissures autour des ostéons sont également visibles (fig. 5 D).

Echantillon	Teneur en collagène (rapport amide sur phosphate)	Teneur en carbonate (rapport carbonate sur phosphate)	Splitting Factor IRSF	Indice histologique de conservation OHI (Oxford Histology Index)
ABH_Po_1	0.17 ± 0.04	0.49 ± 0.11	3.3 ± 0.3	3
ABH_Po_2	0.27 ± 0.06	0.49 ± 0.08	3.0 ± 0.1	2
ABH_Po_3	0.28 ± 0.04	0.45 ± 0.06	3.1 ± 0.2	3
ABH_Po_4	0.52 ± 0.23	0.71 ± 0.19	2.8 ± 0.2	4
AB_Po_5	0.53 ± 0.07	0.66 ± 0.04	2.8 ± 0.03	4
AB_Po_6	0.24 ± 0.02	0.68 ± 0.01	2.7 ± 0.03	2
AB_Po_7	0.93 ± 0.15	0.84 ± 0.04	2.6 ± 0.2	5
Os moderne (bovin, tibia)	0.49 ± 0.05	0.37 ± 0.03	2.7 ± 0.1	5

Tableau 1 : Paramètres diagénétiques déduits de l'analyse IRTF des ossements archéologiques du site de La Pollera. L'indice histologique (HI) est attribué à chaque échantillon selon les critères définis par Hedges et Millard (1995).

Table 1: Diagenetic parameters deduced from FTIR analysis performed on archaeological bones from La Pollera. The Histological Index (HI) is based on criteria outlined by Hedges and Millard (1995).

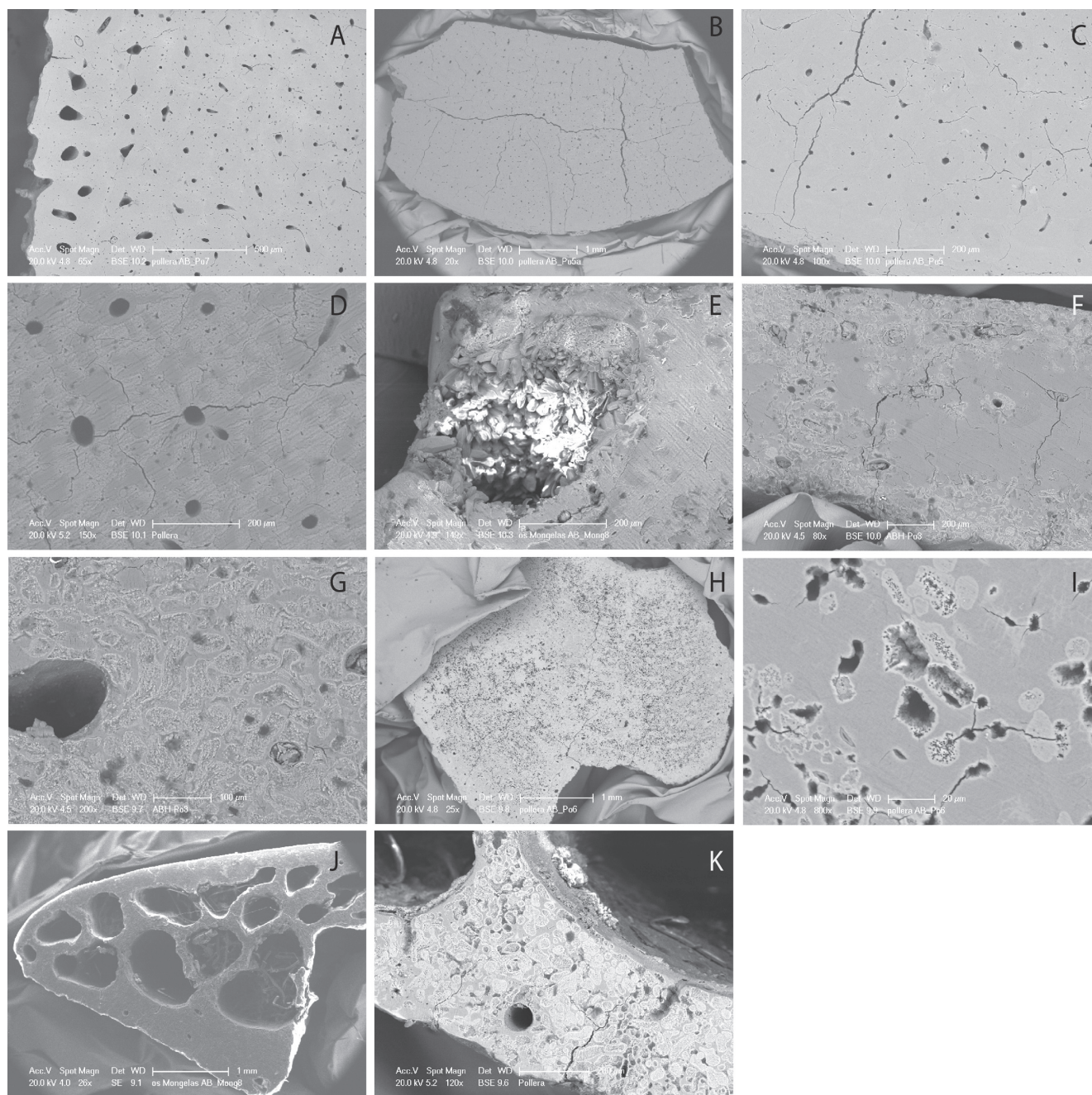


Figure 5 : Images de microscopie électronique à balayage : A) de l'échantillon AB\_Po\_7, B) et C) de l'échantillon AB\_Po\_5 montrant des petites fissures autour des ostéons, D) de l'échantillon ABH\_Po\_4 (femme), E) de l'échantillon ABH\_Po\_1 (homme âgé), F) et G) de l'échantillon ABH\_Po\_3 (homme), H) et I) de l'échantillon ABH\_Po\_6, J) et K) de l'échantillon ABH\_Po\_2 (enfant).

*Figure 5: scanning electron micrographs: A) sample AB\_Po\_7, B) and C) sample AB\_Po\_5 showing small fissures around the osteons, D) sample ABH\_Po\_4 (woman), E) sample ABH\_Po\_1 (old man), F) and G) sample ABH\_Po\_3 (man), H) and I) sample ABH\_Po\_6, J) and K) sample ABH\_Po\_2 (child).*

L'échantillon ABH\_Po1 (homme âgé) est à un état d'altération assez avancé (fig. 5 E). De nombreuses crevasses et creux siègent sur l'ensemble de l'échantillon. Plus particulièrement, des fissures se sont produites autour des ostéons.

De plus, des traces liées à une attaque microbienne sont particulièrement observées en bordure. Le développement intense de cristaux allongés est nettement visible en bordure de l'échantillon.



L'échantillon ABH\_Po3 (homme) possède une surface très altérée (fig. 5 F et G). De nombreuses fissures altèrent sa structure. Les signes d'attaques microbiennes sont visibles sur environ 50 % de sa surface et surtout en bordure (externes et internes).

L'échantillon AB\_Po6 (ovicaprin) est fortement altéré (fig. 5 H et I). Malgré des bords et une zone centrale plus compacts, la quasi-totalité de l'échantillon est très poreux, ce qui confère à l'os un caractère spongieux. A cela s'ajoute la présence de traces d'activité microbienne sur environ 80 % de sa surface. L'échantillon ABH\_Po2 (enfant) est très fortement altéré et montre une activité microbienne sur 80 à 90 % de sa surface (fig. 5 J et K). Des anomalies histologiques ont été observées à l'intérieur des creux de la côte mais n'ont pas été déterminée pour le moment.

## Analyses élémentaires et isotopiques

Les compositions élémentaires en carbone ( $\geq 30\%$ ) et en azote ( $\geq 11\%$ ) ainsi que les rapports C/N (compris entre 2,9 et 3,6) déterminés pour les échantillons de la Pollera respectent dans l'ensemble les critères proposés. Toutefois deux échantillons humains de La Pollera sont exclus de l'étude en raison de très faibles concentrations à la fois en C et en N (tableau 2). Les rendements d'extraction (Rdt) de la matière organique sont corrects, généralement  $\geq 10$  mg/g, malgré l'utilisation de l'ultrafiltration. L'interprétation des données et la discussion porteront sur 25 échantillons (12 humains et 13 animaux).

Les valeurs de  $\delta^{13}\text{C}$  et de  $\delta^{15}\text{N}$  de la faune s'étendent de  $-21,8\text{‰}$  à  $-19,8\text{‰}$  ( $\Delta 2,0\text{‰}$ ) et de  $3,6\text{‰}$  à  $6,2\text{‰}$  ( $\Delta$

Échantillons	Label	$\delta^{13}\text{C}$ (‰)	$\delta^{15}\text{N}$ (‰)	%C	%N	C/N	Rdt (mg/g)	Échantillons C2RMF
Humain 10(II)	S-EVA_11297	-19,9	8,8	40,9	14,9	3,2	24,1	
Humain 12(III)	S-EVA_11298	-20,0	8,5	47,5	17,1	3,2	10,5	
Humain 13(I)	S-EVA_12141	-20,4	7,5	43,6	16,4	3,1		ABH_Po1
Humain 14(VII)	S-EVA_11299	-20,3	8,9	46,1	16,6	3,2	61,4	ABH_Po4
Humain 30(VI)	S-EVA_11300	-20,6	9,1	44,8	16,0	3,3	25,9	
Humain 33(VIII)	S-EVA_11301	-20,2	9,4	44,7	15,8	3,3	15,2	
Humain 6746(IV)	S-EVA_11302	-20,0	8,5	39,4	14,3	3,2	15,2	
Humain 22(V)	S-EVA_12143	-20,4	8,1	42,2	15,5	3,2		ABH_Po3
Humain 32(X)	S-EVA_11304	-20,5	7,1	42,1	13,5	3,6	1,3	
Humain 20(2)	S-EVA_11305	-20,5	8,0	45,8	16,2	3,3	13,2	
Humain 21(3)	S-EVA_12142	-20,2	8,5	42,5	15,4	3,2		ABH_Po2
Humain 34(4)	S-EVA_11306	-20,3	8,6	31,2	11,3	3,2	11,7	
Sus sp. D5/XV a	S-EVA_11313	-21,8	4,1	40,6	14,6	3,3	14,5	
Sus sp. D5/XIV-XV	S-EVA_11314	-20,4	3,6	45,2	16,2	3,3	16,9	
Sus sp. D5/XV b	S-EVA_11315	-20,8	4,3	41,6	15,1	3,2	29,5	
Sus sp. A5/XV	S-EVA_11316	-20,7	6,2	47,0	17,1	3,2	43,9	
Ovicaprin D5/XIII a	S-EVA_12138	-20,1	4,2	40,9	15,6	3,1		
Ovicaprin C6/XV	S-EVA_11307	-20,5	4,7	45,7	16,8	3,2	33,7	AB_Po7 ( <i>Bos</i> sp.?)
Ovicaprin A5/XIII	S-EVA_11308	-19,9	5,9	44,7	16,3	3,2	54,9	
Ovicaprin D5/XIII b	S-EVA_11309	-21,2	5,0	45,7	16,4	3,3	22,8	AB_Po6
Ovicaprin C5/XIV	S-EVA_12139	-19,9	4,2	42,0	15,2	3,2		AB_Po5
Bos sp. B6/XIII a	S-EVA_12140	-19,5	4,3	42,7	15,4	3,2		
Bos sp. B6/XIII b	S-EVA_11310	-19,9	4,5	45,2	16,5	3,2	56,1	
Bos sp. B6/XV	S-EVA_11311	-19,8	4,4	41,7	14,9	3,3	51,7	
Bos sp. C6/XV	S-EVA_11312	-20,7	3,8	46,5	17,0	3,2	52,7	
Consolidant	PolH14	-20,6	7,1	34,8	11,4	3,5		

Tableau 2 : Résultats isotopiques, concentrations élémentaires, C/N et rendement d'extraction du collagène des échantillons osseux humains et animaux bien conservés du site de La Pollera, ainsi que du consolidant.

Table 2: Isotopic results, elemental compositions, C/N ratios and extraction yield of well preserved human and animal bone collagen from La Pollera, as well as of the consolidant.



2,6‰), respectivement. Le  $\delta^{13}\text{C}$  des sujets humains s'étend dans la même gamme de valeurs que celle des animaux : de -20,6‰ à -19,9‰ ( $\Delta$  0,7‰). En revanche le  $\delta^{15}\text{N}$  des sujets humains est plus élevé, de 7,1‰ à 9,4‰ ( $\Delta$  2,3‰) (tableau 2). Le consolidant présente des valeurs isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$  de -20,6‰ et  $\delta^{15}\text{N}$  de 7,1‰) similaire à ce que l'on peut enregistrer sur le collagène de porc ou même d'animaux herbivores domestiques (chèvre-mouton, bœuf; e.g. Bocherens, 1997, Goude, 2007).

## 5. DISCUSSION

### La nature du consolidant

Le test au noir d'amide II et les analyses IRTF du produit de consolidation ont permis d'identifier de la colle d'os sur les échantillons archéologiques humains consolidés du site de La Pollera.

En effet, la plupart des colles animales utilisées pour la conservation d'œuvres et d'objets du patrimoine sont : la gélatine (fabrication à base de tissus d'animaux tels que os, tendons, nerfs composés de collagène), l'albumine, la caséine (constituant essentiel du lait) ou la cire.

### L'état de conservation des ossements au niveau de leur composition chimique

Les analyses IRTF ont permis de mieux évaluer l'état de conservation des différents échantillons d'os archéologique. En règle générale, les échantillons d'os animal possèdent une structure compacte proche de celle d'un os moderne, tandis que les échantillons d'os humain, les côtes, sont de par leur nature plus poreux.

Les trois os humains ABH\_Po1-3 et l'os animal AB\_Po\_6 ont des teneurs en collagène bien moindres que la référence d'os moderne indiquant une altération de la phase organique. Pour ces os humains, la phase minérale est aussi fortement altérée par rapport à l'os moderne. L'os animal AB\_Po\_7 montre une phase organique altérée mais une phase minérale bien conservée. L'os humain ABH\_Po\_4 montre une bonne conservation de la phase organique et minérale indiquant un bon état de conservation de cet échantillon en général.

Dans tous les échantillons d'os archéologique la teneur en carbonate est plus élevée que celle de l'os moderne. Ce fait peut s'expliquer par l'enrichissement des os en carbonate de calcium, un phénomène compatible avec l'introduction de ce minéral secondaire lors de la diagenèse des vestiges osseux au cours de leur enfouissement dans la grotte karstique de La Pollera.

### L'état de conservation des ossements au niveau de leur micromorphologie

Les observations au MEB ont permis de mieux évaluer l'état de conservation de la micromorphologie des différents échantillons d'os archéologique. En règle générale, les échantillons d'os animal possèdent une structure compacte proche de celle d'un os moderne, tandis que les échantillons d'os humain, les côtes, sont de par leur nature plus poreux.

Les os animaux AB\_Po\_5 et \_7 sont bien conservés. Les échantillons d'os montrant des premiers signes d'altération de la micromorphologie soit sous forme d'inclusions sont ABH\_Po\_1 soit au niveau de l'altération par des attaques microbiennes ABH\_Po\_3 et \_4. Dans ces échantillons, la répartition des faciès d'altération n'est pas homogène.

Les échantillons AB\_Po\_6 (animal) et ABH\_Po\_2 (humain) montrent des états d'altération très avancés avec d'une part une porosité très importante et des signes d'attaque microbienne localisée pour le premier et des signes d'attaque microbienne généralisée pour le dernier.

Les évaluations des états de conservation des échantillons archéologiques par les deux méthodes (IRTF et MEB) utilisées sont en accord à l'exception de l'échantillon ABH\_Po\_1 qui reste globalement bien conservé au niveau de sa micromorphologie mais relativement altéré selon les paramètres définis en IRTF. Cette différence pourrait résulter du fait que les analyses IRTF aient été réalisées sur un petit prélèvement de l'échantillon.

Aucune différence au niveau du type d'attaque microbienne entre les ossements humains et animaux n'a pu être mise en évidence. Toutefois, le nombre d'échantillons étudiés n'est pas assez important pour discuter avec pertinence ce résultat. Par ailleurs, aucun impact chimique du consolidant sur les échantillons osseux n'a été observé d'après les analyses IFTF et les observations au MEB.

### Comparaison entre les valeurs isotopiques des sujets humains et animaux

Les valeurs isotopiques de la faune de Pollera sont caractéristiques de celles enregistrées pour des animaux herbivores vivant en milieu tempéré et exploitant les ressources uniquement terrestres (Bocherens, 1997). Elles sont également comprises dans la gamme de valeurs observées pour les animaux d'autres sites néolithiques de Ligurie et Provence (Le Bras-Goude *et al.* 2006a; 2006b). La comparaison entre les valeurs des sujets humains et animaux sur le site de La Pollera indique : (1) pour le  $\delta^{13}\text{C}$  que les sujets humains se sont approvisionnés dans le même environnement que les animaux et donc probablement uniquement dans le milieu

terrestre local, et (2) pour le  $\delta^{15}\text{N}$  que la différence moyenne entre les humains et la faune ( $\Delta \delta^{15}\text{N}_{\text{humain-faune}} = 3,7 \text{ ‰}$ ) correspond à une différence de niveau trophique (Bocherens & Drucker, 2003; Minagawa & Wada, 1984) suggérant une consommation importante de protéines animales (lait et ou viande) par cette population (figure 6).

### Comparaison entre les valeurs isotopiques du consolidant ainsi que des sujets humains et animaux

Le  $\delta^{13}\text{C}$  du consolidant est dans la gamme de valeurs enregistrées pour les sujets humains et également pour la faune. En revanche le  $\delta^{15}\text{N}$  du consolidant (7,1 ‰) est plus bas que celui des sujets humains en moyenne, autant sur le site de La Pollera ( $8,4 \pm 0,6 \text{ ‰}$ ) que sur d'autres sites néolithiques ligures et provençaux non traités par des consolidants ( $8,5 \pm 0,7 \text{ ‰}$ ,  $n = 13$ ; Pendimoun, Le Rastel, Arene Candide; Le Bras-Goude *et al.* 2006a; 2006b). Il nous semble peu probable que le consolidant soit réalisé à base de collagène de poisson car ce dernier a généralement un  $\delta^{15}\text{N}$  plus élevé que l'échantillon analysé (e.g. d'après Dufour *et al.*, 1999, la moyenne établie sur 46 poissons actuels lacustres :  $\delta^{15}\text{N} = 12,4 \pm 1,4$  et  $\delta^{13}\text{C} = -24,6 \pm 2,1$ ; les  $\delta^{15}\text{N}$  de l'os étant équivalents à ceux de l'ensemble du corps d'un animal, Bocherens, 1994). Ces observations nous amènent à penser que si le consolidant avait contaminé le collagène original extrait, les valeurs isotopiques de l'azote des ossements seraient plus basses que celles enregistrées sur les humains de La Pollera. Un des sujets humains du site de La Pollera

a un  $\delta^{15}\text{N}$  similaire à celui du consolidant (S-EVA 11304), cependant ce sujet montre un rapport C/N (3,6) différent des autres sujets, limite aux valeurs acceptées, et un rendement d'extraction très faible (1,3 mg/g) par rapport à tous les autres échantillons (tableau 2). Il est donc probable que ce sujet humain du site de La Pollera ait une signature isotopique modifiée par la diagenèse, ou bien par le consolidant. En effet, si l'os est très mal conservé, sa corticale peut potentiellement être contaminée en profondeur, ce qui rendrait difficile l'élimination du consolidant lors du nettoyage de l'échantillon. Cependant il n'a pas été possible d'étudier cet échantillon pour vérifier cette hypothèse. Son exclusion du corpus d'échantillon ne modifie toutefois pas l'interprétation paléolithaire proposée. Par ailleurs, le collagène du sujet humain 14 de La Pollera (S-EVA 11299) présente un  $\delta^{15}\text{N}$  différent (8,9 ‰) de celui du consolidant, prélevé sur le même sujet et la même partie anatomique.

### Comparaison entre les valeurs isotopiques déterminées au site de Pollera avec celles d'autres sites contemporains de la région

La confrontation des résultats isotopiques de Pollera avec ceux des autres sites ligures et provençaux souligne en particulier que : (1) les données isotopiques humaines sont assez semblables et homogènes pour l'ensemble des sites, et (2) la relation trophique entre la faune et les sujets humains est similaire pour tous les sites. Par conséquent, il semblerait que le schéma alimentaire proposé sur la base des résultats isotopiques : alimentation très majoritairement tournée

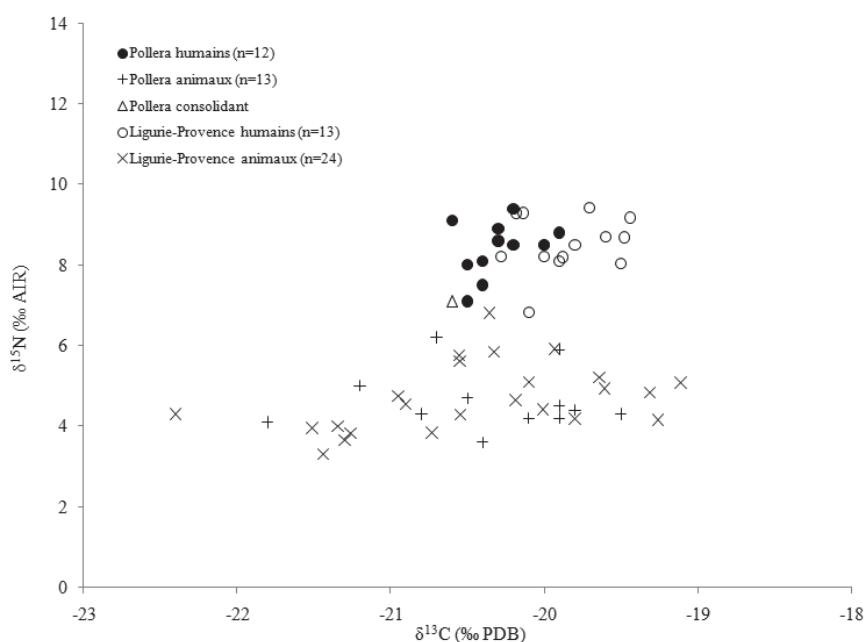


Figure 6 :  $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$  des sujets humains et des animaux du site de La Pollera et de sites ligures et provençaux publiés (excluant un sujet pathologique; Le Bras-Goude *et al.*, 2006a; 2006b), ainsi que du consolidant.

Figure 6:  $\delta^{13}\text{C}$  and  $\delta^{15}\text{N}$  of human and animal bone collagen from La Pollera and from other published sites located in Liguria and Provence (excluding a pathological individual; Le Bras-Goude *et al.*, 2006a; 2006b), as well as data from the consolidant.

vers les ressources animales terrestres, soit une constante du Néolithique ancien au Néolithique final dans la zone Ligure-Est provençale. Même si des restes archéologiques témoignent de la consommation de ressources marines, ces dernières n'avaient probablement pas une place prépondérante (en dessous de 20 % de l'alimentation protéinique) dans les modes de subsistance de ces populations.

## 6. CONCLUSION

L'ensemble de ces résultats nous permet d'appuyer l'hypothèse que les collagène extrait des ossements humains de La Pollera n'a pas été « isotopiquement » contaminé de manière significative par le consolidant. Le consolidant (à base de colle animale), très soluble dans l'eau, semble avoir peu pénétré dans la corticale osseuse, ce qui a facilité son élimination principalement au moment du nettoyage par l'abrasif (action mécanique). La combinaison d'un nettoyage par l'eau (dans un bain à ultrason) et d'un nettoyage mécanique (par abrasif ou avec une fraiseuse), semble, à notre avis, être une solution optimale pour éliminer au maximum la colle animale exogène. Ajouté au protocole technique, le contrôle des critères de conservation (teneurs élémentaires et C/N) sur le collagène originel extrait reste essentiel pour déterminer la validité des mesures isotopiques. Il est également à noter que les analyses isotopiques des os semblent possibles mêmes pour des échantillons altérés par les microorganismes. Toutefois, une faible contamination, non identifiable à partir de l'analyse des isotopes stables, n'est pas exclue et pourrait avoir un impact sur les datations radiométriques. Une comparaison de datations carbone-14 entre le collagène osseux et dentaire (ce dernier non soumis au problème de consolidation ; demande d'autorisation en cours) d'un même sujet humain pourra préciser le degré d'une contamination éventuelle sur cette collection.

## Remerciements

Le travail effectué sur La Pollera fait partie d'une étude paléoolimentaire plus étendue menée en 2009 sur d'autres sites néolithiques ligures (Grotta Bergeggi, l'Arma del'Aquila, Riparo Pian del Ciliegio, Garbu du Surdu) financée grâce au programme européen Lavoisier du Ministère français des affaires étrangères et européennes et à la Fondation Singer-Polignac (étude G. Le Bras-Goude). Les auteurs remercient le Prof. G. Manzi et le Dr. M.A. Tafury du Laboratoire d'Anthropologie de l'Université de Rome la Sapienza, V. Formicola (Univ. Pise), G. Odetti (Univ. Gênes), A. Del Lucchese et la Soprintendenza Archeologica della Liguria, M. De Pascale et le Musée archéolo-

gique de Finale, P. Garibaldi, G. Rossi et le musée archéologique de Gênes Pegli, J.-J. Hublin, M. Richards, M. Mannino et le Dpt. d'Evolution Humaine de l'Institut Max Planck d'Anthropologie Evolutive de Leipzig, D. Binder (CEPAM UMR CNRS 6130, Nice) et l'Ecole Française de Rome. Les analyses effectuées à l'UMR 171 CNRS – Laboratoire du C2RMF ont été financées grâce au programme ANR ArBoCo (ANR-07-JCJC-0149).

## Bibliographie

- AMBROSE, S. H., 1993. Isotopic analysis of paleodiets: methodological and interpretative considerations. In MK. Sandford (dir.). *Investigations of ancient human tissue Chemical analyses in Anthropology*. Gordon and Breach Science Publishers, Langhorne, p. 59-130.
- AROBBA, D., DEFERRARI, G., NISBET, R., 1997. Carpological investigation at the cave of Arene Candide: an impression of caryopsis of Barley on ceramic sherd. In R. Maggi (dir.). *Arene Candide: a functional and environmental assessment of the Holocene sequence (excavation Bernabò Brea-Cardini, 1940-1950)*. Memorie dell'Istituto Italiano di Paleontologia Umana, Rome, p. 119-123.
- BIAGI, P., 1987. Il Neolitico della Liguria e del Piemonte. *Atti XXVI Riunione Scientifica dell'Istituto Italiano di Preistoria e Protostoria*, 1, p. 203-216.
- BOCHERENS, H., 1997. Signature isotopique dans le collagène des os. *Comptes rendus de la Société de biologie*, 4, p. 493-510.
- BOCHERENS, H., 1994. Diet physiology and ecology of fossil mammals as inferred from stable carbon and nitrogen isotope biogeochemistry implications for Pleistocene bears. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 107, p. 213-225.
- BOCHERENS, H., DRUCKER, D., 2003. Trophic level isotopic enrichment of carbon and nitrogen in bone collagen: case studies from recent and ancient terrestrial ecosystems. *International Journal of Osteoarchaeology*, 13, p. 46-53.
- BOCHERENS, H., DRUCKER, D., BILLIOU, D., 2005A. État de conservation des ossements de la grotte Chauvet (Vallon Pont-d'Arc, Ardèche, France). *Bulletin de la Société préhistorique française*, 102, p. 77-87.
- BOCHERENS, H., DRUCKER, D., BILLIOU, D., MOUSSA, M., 2005B. Une nouvelle approche pour évaluer l'état de conservation de l'os et du collagène pour les mesures isotopiques (datation au radiocarbone, isotopes stables du carbone et de l'azote). *L'Anthropologie*, 109, p. 557-567.
- BRANCH, N., 1997. Palynological study of the early and middle Neolithic cave deposits of Arene Candide: preliminary results. In R. Maggi (dir.). *Arene Candide: a functional and environ-*

- mental assessment of the Holocene sequence (excavation Bernabò Brea-Cardini, 1940-1950). *Memorie dell'Istituto Italiano di Paleontologia Umana*, Rome, p. 89-102.
- BROWN, T. A., NELSON, D. E., VOGEL, J. S., SOUTHON, J. R., 1988. Improved collagen extraction by modified Longin method. *Radiocarbon*, 30, p. 171-178.
- DE NIRO, M. J., 1985. Post-mortem preservation and alteration of in vivo bone collagen isotope ratios on relation to palaeodietary reconstruction. *Nature*, 317, p. 806-809.
- DE NIRO, M. J., EPSTEIN, S., 1978. Influence of diet on the distribution of carbon isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 42, p. 495-506.
- DE NIRO, M. J., EPSTEIN, S., 1981. Influence of diet on the distribution of nitrogen isotopes in animals. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45, p. 341-351.
- DUFOUR, E., BOCHERENS, H., MARIOTTI, A., 1999. Palaeodietary implications of isotopic variability in eurasian lacustrine fish. *Journal of Archaeological Science*, 26, p. 617-627.
- GOUDE, G., 2007. *Étude des modes de subsistance de populations néolithiques (VI<sup>e</sup>-IV<sup>e</sup> millénaires av. J.-C.) dans le nord-ouest de la Méditerranée. Approche par l'utilisation des isotopes stables ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ) du collagène* [Thèse de doctorat]. Talence/Leipzig, Université Bordeaux 1/Université de Leipzig.
- HEDGES, R. E. M., MILLARD, A. R., PIKE, A. W. G., 1995. Measurements and Relationships of Diagenetic Alteration of Bone from Three Archaeological Sites. *Journal of Archaeological Science*, 22, p. 201-209.
- HERRSCHER, E., LE BRAS-GOUDE, G., 2010. Southern French Neolithic populations: isotopic evidence for regional specificities in environment and diet. *American Journal of Physical Anthropology*, 14, p. 259-272.
- HORIE, C. V., 1987. *Material for conservation. organic consolidants, adhesives and coatings*. Oxford, Butterworth-Heinemann.
- VAN KLINKEN, G. J., 1999. Bone collagen quality indicators for palaeodietary and radiocarbon measurements. *Journal of Archaeological Science*, 26, p. 687-695.
- LE BRAS-GOUDE, G., BINDER, D., FORMICOLA, V., DUDAY, H., COUTURE, C., HUBLIN, J.-J., 2006A. Stratégies de subsistance et analyse culturelle de populations néolithiques de Ligurie : approche par l'étude isotopique ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ) des restes osseux. *Bulletins et Mémoires de la Société d'Anthropologie de Paris*, 18, p. 43-53.
- LE BRAS-GOUDE, G., BINDER, D., SIMON, P., RICHARDS, M. P., 2006B. L'homme du Rastel (Peillon, Alpes-maritimes, France) : nouvelles données isotopiques ( $\delta^{13}\text{C}$  et  $\delta^{15}\text{N}$ ), radio-métriques et archéologiques. *Bulletin du Musée d'Anthropologie préhistorique de Monaco*, 46, p. 84-88.
- LONGIN, R., 1971. New method of collagen extraction for radiocarbon dating. *Nature*, 230, p. 241-242.
- MESSERI, P., SCARSINI, C., CRESTI, D., 1977. Resti umani in una tomba neolitica della Grotta Pollera nel Finalese. *Rivista di Scienze Preistoriche Firenze*, 32, p. 235-276.
- MINAGAWA, M., WADA, E., 1984. Stepwise enrichment of  $^{15}\text{N}$  along food chain: further evidence and the relation between  $\delta^{15}\text{N}$  and animal age. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 48, p. 1135-1140.
- NISBET, R., 1997. Arene Candide : charcoal remains and prehistoric woodland use. In R. Maggi (dir.), *Arene Candide: a functional and environmental assessment of the Holocene sequence (excavation Bernabò Brea-Cardini, 1940-1950)*. Memorie dell'Istituto Italiano di Paleontologia Umana, Rome, p. 103-112.
- ODETTI, G., 1976. POLLERA. In COLL. (dir.), *Archeologia in Liguria Scavi e scoperte 1967-1975: Soprintendenza archeologica della Liguria*, Genova, p. 145-148.
- ODETTI, G., 1990 – Saggio nei livelli neolitici della grotta Pollera. *Rivista Ingauna e Intemelina*, XLV (1-4), p. 107-143.
- PASCALE, A. DE, AROBBA, D., 2008. *Le guide del museo archeologico del Finale*. Istituto Internazionale di Studi Liguri, Finale Ligure.
- REICHE, I., LEBON, M., CHADEFAUX, C., MÜLLER, K., LE HÔ, A.-S., GENSCH, M., SCHADE, U., 2010. Microscale imaging of the preservation state of 5,000-year-old archaeological bones by synchrotron infrared microspectroscopy. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397, p. 2491-2499.
- RICHARDS, M. P., HEDGES, R., 1999. Stable isotope evidence for similarities in the types marine food used by late mesolithic humans at sites along the Atlantic coast of Europe. *Journal of Archaeological Science*, 26, p. 712-722.
- SCHOENINGER, M. J., DE NIRO, M. J., TAUBER, H., 1983. Stable Nitrogen isotope ratios of bone collagen reflect marine and terrestrial components of prehistoric human diet. *Science*, 220, p. 1381-1383.
- SCHOENINGER, M. J., MOORE, K., 1992. Bone stable isotope studies in archaeology. *Journal of World Prehistory*, 6, p. 247-285.